



Е.А. Подплетняя¹, И.А. Мазур², В.И. Мамчур¹, В.Ю. Слесарчук¹, Е.А. Портная²

Изменение болевой чувствительности у крыс при моделировании заболеваний костно-суставной системы на фоне применения Индометрилла

¹Днепропетровская государственная медицинская академия,

²Запорожский государственный медицинский университет,

НПО «Фарматрон», г. Запорожье

Ключевые слова: нестероидные противовоспалительные средства, индометацин, диклофенак натрия, тиотриазолин, анальгезия, ревматоидный артрит, остеоартроз.

Ключевые слова: нестероидные противовоспалительные средства, индометацин, диклофенак натрия, тиотриазолин, анальгезия, ревматоидный артрит, остеоартроз.

Key words: nonsteroidal anti-inflammatory drugs, Indometacin, Diclofenac sodium, Thiotriazolin, analgesic activity, rheumatoid arthritis, osteoarthritis.

Наведено дані про анальгетичну активність відомих нестероїдних протизапальних засобів – індометацину та диклофенаку натрію, а також нового вітчизняного представника цієї групи – препарату Индометрил – в умовах модельованого ад'ювантного артриту та артозу у щурів. Препарат Индометрил є комбінацією індометацину в дозі, що дорівнює ½ від оптимальної анальгетичної, та тиотриазоліну. Результати досліджень свідчать про підвищення порогу больового реагування індометацину при його одночасному застосуванні з антиоксидантом тиотриазоліном.

Представлены данные об анальгетической активности известных нестероидных противовоспалительных средств – индометацина и диклофенака натрия, а также нового отечественного представителя этой группы – препарата Индометрил – в условиях моделируемого адъювантного артрита и артроза у крыс. Препарат Индометрил является комбинацией индометацина в дозе, равной ½ от оптимальной анальгетической, и тиотриазолина. Результаты исследований свидетельствуют о повышении порога болевой реакции индометацина при его одновременном использовании с антиоксидантом тиотриазолином.

The data about analgesic activity of popular nonsteroidal anti-inflammatory drug - Indometacin and Diclofenac sodium and new domestic representative of this group Indotril in conditions of model adjuvant arthritis and osteoarthritis in rats are presented. Indotril is combination of Indometacin (dose is conformed to ½ of optimal analgesic dose) and Thiotriazolin. The experimental research testifies about rise of the threshold of analgesic reaction of indometacin used with antioxidant Thiotriazolin.

Ревматоидный артрит (РА) и остеоартроз (ОА) являются наиболее частой причиной снижения уровня жизни и нетрудоспособности населения. Современные методы лечения РА и ОА направлены на уменьшение воспаления и боли, улучшение функции суставов и предотвращение инвалидизации больных. По современным представлениям, РА – классическая модель хронического воспалительного заболевания человека, в основе патогенеза которого лежат тяжелые нарушения в системе иммунитета [1]. При ОА поражаются все компоненты сустава, в первую очередь, хрящ, а также субхондральная кость, синовиальная оболочка, связки, капсула и периартикулярные мышцы. Ведущим симптомом при заболеваниях опорно-двигательного аппарата является боль, в связи с чем в классификации препаратов, которые применяются при дегенеративных и воспалительных заболеваниях суставов, нестероидные противовоспалительные средства (НПВС) составляют первую группу.

Индометацин является одним из наиболее мощных НПВС. Его главный недостаток – частое развитие побочных реакций (35–50% больных), причем их частота и выраженность зависят от суточной дозы. В некоторых случаях из-за побочного действия препарат отменяют.

Самыми серьезными осложнениями, возникающими при приеме НПВС, являются развитие пептических язв

желудка и двенадцатиперстной кишки, перфорация, кровотечения и другие осложнения со стороны ЖКТ [2]. При этом, у больных ревматическими заболеваниями указанные серьезные побочные реакции выявляются значительно чаще, чем у общей популяции [3], а индометацин считается одним из самых ulcerогенных НПВС. В то же время, уже не вызывает сомнения факт активации перекисного окисления липидов (ПОЛ) при воспалении и боли, в которых они играют важную патогенетическую роль. Многие антиоксиданты проявляют свойства анальгетиков и противовоспалительных средств и способны уменьшать гастротоксичность НПВС.

Благодаря расширению возможностей детального исследования фармакодинамических и фармакокинетических особенностей лекарственных препаратов, перспективным и экономически выгодным путем создания новых лекарственных средств может считаться комбинирование нескольких веществ с необходимым фармакологическим профилем. В последнее время большой интерес у исследователей вызывает изучение непростогландиновой активности классических и вновь созданных нестероидных противовоспалительных средств: влияние на синтез цитокинов, лейкотриенов, активных форм кислорода, активность калликреин-кининовой системы, i-NOS и т. д. [4].

Созданный недавно фиксированный комбинированный

препарат Индотрил, сочетающий в себе индометацин (в дозе, равной 1/2 оптимальной анальгетической) и антиоксидант тиотриазолин, имеет целый ряд преимуществ перед индометацином. Так, у нового лекарственного средства в разных модельных условиях обнаружена выраженная противовоспалительная и анальгетическая активность, которая выше, чем у индометацина [5,6]. Также Индотрил имеет хороший профиль безопасности: входящий в его состав тиотриазолин нивелирует гастро-, гепато-, нефро- и хондротоксичность индометацина [7,8].

Цель работы

Исследование анальгетической активности перспективного препарата Индотрил в условиях моделирования адьювантного артрита и артроза у крыс.

Материалы и методы исследования

Адьювантный артрит (АА) моделировали введением адьюванта типа Фрейнда в подошвенную часть задней лапы крысы [9]. Согласно этой методике, адьювант типа Фрейнда вводится подкожно в подошвенную часть задней лапы крысы из расчета 0,1 мл на крысу. Через 1–2 дня у всех животных на месте введения адьюванта развивается местная воспалительная реакция, которая сопровождается значительным увеличением объема конечности. Максимум проявления местной воспалительной реакции наблюдается на 10–14 сутки, потом активность процесса постепенно уменьшается. Начало введения препаратов соответствует максимуму воспалительной реакции. Опыты проведены на 36 белых крысах-самцах массой 180±20 г. Исследуемые НПВС – индометацин и диклофенак натрия (препарат сравнения) – вводили 1-й и 2-й группам животных в подпороговых дозах (5 мг/кг), комбинированное средство «Индотрил» (индометацин 5 мг/кг и тиотриазолин 15 мг/кг) получала 3-я группа животных, 4-я группа – крысы с моделируемым артритом, которые не получали лечения.

ОА моделировали на 36 белых крысах массой 180±20 г. Модель основана на введении в коленный сустав раствора моноидуксусной кислоты (МУК) из расчета 3 мг на 50 мкл стерильного физиологического раствора, как описано С. Guingamp, P. Georgout-Pottie [10]. Начиная с 21 дня, больным животным вводили исследуемые препараты – индометацин 5 мг/кг, диклофенак натрия 5 мг/

кг, комбинированный препарат Индотрил (индометацин 5 мг/кг+тиотриазолин 15 мг/кг), дистиллированную воду (контрольная группа) – на протяжении 1 недели.

Анальгетическую активность исследованных средств у животных с моделируемым артрозом и АА оценивали по латентному периоду реакции отдергивания хвоста [11].

Также определяли продольный и поперечный размер сустава в исходном состоянии, до лечения препаратами и после лечения (перед забоем животных).

Результаты и их обсуждение

«Ревматические» боли встречаются более чем у 1/3 населения земного шара. Чаше всего, боль при артрите возникает при движениях или надавливании на воспаленные структуры, хотя возможны также боли в покое. Эти наблюдения подтверждают, что ноцицепторы при артрите скорее сенсibilизированы, чем стимулированы. Суставные ноцицепторы неадекватно чувствительны к стимулам, которые в обычных условиях не вызывают боли. Это связано со снижением порога чувствительности и вовлечением так называемых «молчащих» ноцицепторов. Кроме того, усиливается ответ на надпороговые стимулы, увеличивается спонтанная активность, нарушаются симпатические рефлексы.

Проведено исследование влияния термического раздражителя на реакцию животных в процессе формирования артрита и в ходе его лечения. Результаты, представленные в *табл. 1*, свидетельствуют о наличии синергизма в обезболивающем действии индометацина и тиотриазолина, так как болевой порог у крыс 3-й группы, хотя и недостаточно, но более интенсивно увеличился, чем у животных, получавших индометацин и, особенно, диклофенак. Возможно, более выраженная, чем у диклофенака, анальгетическая активность, обнаруженная при монотерапии АА индометацином и его комбинацией, объясняется проявлением его мощного противовоспалительного действия при данной моделируемой патологии.

Таким образом, все исследованные НПВС и комбинированный препарат улучшают состояние животных, уменьшая проявление одного из симптомов ревматоидного артрита – боли, при этом комбинированное лекарственное средство «Индотрил» проявляет наибольшую активность.

Таблица 1

Изменения болевых порогов на основных этапах развития и лечения ревматоидного артрита

Группы	Исходный фон, с.	14 дней заболевания, с (% изменений порога по отношению к исходному фону)	1 неделя лечения, с	% изменений порога после лечения по отношению к пику заболевания
Индометацин	5,28±0,68	4,38±0,57 (-17,0%)	5,53±0,72	+26,1
Диклофенак натрия	5,06±1,03	4,45±0,91 (-12,0%)	5,45±1,11	+22,4
Индотрил	5,25±0,9	4,3±0,75 (-18,0%)	5,65±0,98	+31,5
Контроль-адьювантный артрит	5,2±0,96	4,21±0,78 (-19,0%)	3,97±0,73	-5,7

Введение адьюванта Фрейнда спровоцировало развитие воспаления, которое визуально проявилось в виде отека конечности животного. Макроскопически суставы были опухшими, кожа над ними гиперемирована, пассивные движения ограничены и болезненны. Размеры лап (среднее между шириной и толщиной пораженного сустава) при этом достоверно ($p < 0,05$) увеличились на 15–27%, в связи с чем животные ранжированы и распределены по экспериментальным группам.

Неделя лечения АА позволила обнаружить противовоспалительную активность препаратов, проявляющуюся в уменьшении отека, при этом явные преимущества в лечении моделируемого артрита выявлены у комбинированного препарата Индотрил (табл. 2).

Основная цель лечения артроза заключается в уменьшении боли, снижении функциональной недостаточности суставов, ограничении прогрессирования заболевания и, в конечном счете, улучшении качества жизни больных. Болевой синдром при ОА выражен значительно больше, чем при артрите, так как сам хрящ лишен нервных окончаний. Боль в данном случае связана с поражением костей (остеофиты, микроинфаркты, увеличение давления в субхондральной кости и костномозговом канале), суставов (воспаление синовиальной оболочки, растяжение капсулы сустава), околоуставных тканей (повреждение связок, мышечный спазм, бурсит), психоэмоциональными и другими факторами.

Наши эксперименты на крысах продемонстрировали появление основных симптомов заболевания через 3 недели

после введения МУК, которое вызывает дегенеративные изменения в тканях сустава, что сопровождается видимыми изменениями конечности животного – повышается болевая чувствительность, нарушается двигательная активность, увеличивается размер сустава. Такие изменения, которые прогрессируют вплоть до 20 дня от введения МУК, свидетельствуют о развитии экспериментального артроза. Результаты наших исследований изменения болевого реагирования животных на термическое раздражение в ходе развития артроза и его лечения представлены в табл. 3.

Как видно, крысы, получавшие исследуемые препараты, в отличие от контрольной группы животных, не получавших лечение, меньше реагировали на раздражитель, что демонстрирует анальгетическую эффективность исследуемых препаратов сравнения – НПВС – и, в большей степени, исследуемого комбинированного препарата.

Препарат Индотрил уменьшает объем пораженных суставов на 18,87%, а препараты сравнения индометацин – на 16,25%, диклофенак – на 14,95%, в то время, как в контрольной группе нелеченых животных размеры суставов увеличивались (табл. 4).

На основании полученных данных можно сделать вывод, что исследуемые препараты оказывают положительный терапевтический эффект (рис. 1) (подразумевается уменьшение размеров сустава под влиянием лечения, по отношению к размерам сустава на «пике заболевания» – перед лечением).

Таблица 2

Динамика изменений размеров пораженных суставов в процессе развития АА и в ходе лечения

Группы	Исходный фон, мм	14 дней заболевания, мм	1 неделя лечения, мм
Индометацин	0,67±0,02	0,77±0,02*	0,73±0,02
Диклофенак натрия	0,65±0,02	0,76±0,03*	0,72±0,03
Индотрил	0,68±0,02	0,78±0,02*	0,68±0,01**
Контроль-адьювантный артрит	0,69±0,04	0,81±0,04*	0,82±0,04

Примечания: * – изменения достоверны по отношению к исходному фону ($p < 0,05$); ** – изменения достоверны по отношению к пику заболевания ($p < 0,05$).

Таблица 3

Изменения болевых порогов на основных этапах исследования

Группы	Исходный фон	3 недели болезни	1 неделя лечения
Индометацин	1,96±0,05	1,6±0,04*	2,09±0,071
Индометацин + тиотриазолин	1,92±0,066	1,55±0,064*	2,07±0,083
Диклофенак натрия	1,95±0,039	1,59±0,041*	2,06±0,053
Контроль-артроз	1,94±0,035	1,61±0,033*	1,55±0,032*

Примечание: * – изменения достоверны по отношению к исходному фону ($P < 0,05$).

Таблица 4

Средние размеры пораженных суставов на основных этапах исследования

Группы	Исходный фон	3 недели болезни	1 неделя лечения
Индометацин	0,75±0,02	1,03±0,03*	0,9±0,05* **
Индометацин + тиотриазолин	0,73±0,08	0,98±0,05*	0,84±0,03**
Диклофенак натрия	0,73±0,04	0,98±0,04*	0,87±0,03*
Контроль-артроз	0,73±0,03	0,98±0,04*	1,06±0,04*

Примечания: * – изменения достоверны по отношению к исходному фону ($p < 0,05$); ** – изменения достоверны по отношению к группе животных с моделируемым артритом ($p < 0,05$);

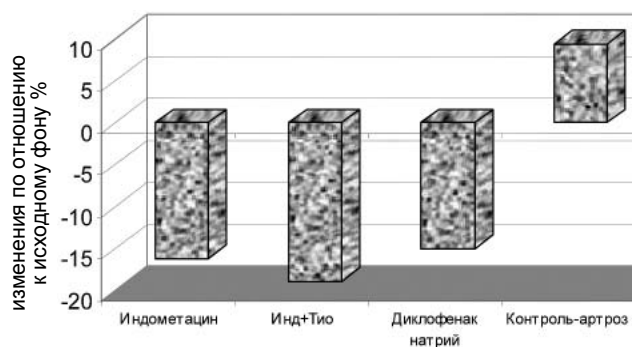


Рис. 1. Разница размеров суставов (в %) на пике заболевания и после лечения.

Примечание: за 0 приняты размеры пораженного сустава на пике заболевания, отрицательные значения указывают на уменьшение сустава, а положительные – на его увеличение; Инд+Тио – Индометацин + тиотриазолин

Таким образом, роль симптоматической терапии ОА с помощью НПВС является неоспоримой, но для получения патогенетического (противовоспалительного) эффекта препараты должны вводиться в начальном периоде заболевания.

Анализируя изложенные факты, мы пришли к убеждению, что антиоксидант тиотриазолин, входящий в состав комбинированного препарата Индотрил, положительно влияет на лечение артрита и артроза. Антиоксидант позволяет в 2 раза снизить дозу основного препарата (индометацина), повысить порог болевой реакции в условиях моделируемого заболевания, уменьшить размеры суставов и повысить работоспособность животных.

Активация процессов ПОЛ при различных патологических процессах, в том числе и при формировании болевой реакции, является неотъемлемой фазой патологического процесса. Интенсивность образования простагландинов, о чем свидетельствуют многочисленные данные специальной литературы, меняется, в зависимо-

сти от присутствия прооксидантов и антиоксидантов. Этот факт подтверждается экспериментами *in vivo* и *in vitro* [12,13]. Изучение влияния антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы) на образование простагландинов также подтверждает тот факт, что «свободнорадикальный окислительный гомеостаз» клетки находится во взаимосвязи с синтезом простагландинов и других провоспалительных агентов [14,15]. Сейчас также известно об особых метаболитах арахидоновой кислоты – изопростанах, образование которых *in vivo* протекает без участия ЦОГ, инициируется свободными радикалами, и появившиеся продукты реакции имеют определенную физиологическую активность [16]. Следовательно, антиоксидант тиотриазолин, уменьшая количество патогенных свободных радикалов, действительно способен препятствовать прогрессированию таких патологических процессов, как болевая реакция, воспаление, НПВС-гастроудоденотоксичность.

Таким образом, дальнейшее исследование отечественного препарата Индотрил является перспективным направлением фармакологической науки, позволяющим поднять эффективность и безопасность симптоматического лечения заболеваний опорно-двигательного аппарата НПВС.

Выводы

1. Препарат Индотрил (индометацина 5 мг/кг + тиотриазолина 15 мг/кг) проявляет более выраженную антиноцицептивную активность, чем индометацин в подпороговой анальгетической дозе 5 мг/кг при моделируемых заболеваниях суставов.
2. Тиотриазолин в дозе 15 мг/кг потенцирует антиэкссудативную активность индометацина при адьювантном артрите и артрозе у крыс.
3. Препарат Индотрил является рациональным синергичным сочетанием индометацина и тиотриазолина с высокой эффективностью и достаточным уровнем безопасности.

Литература

1. Насонов Е.Л. Глюкокортикоиды при ревматоидном артрите: за и против / Е.Л.Насонов, Н.В.Чичасова, Е.В. Супоницкая // Русский медицинский журнал – 2004. – Т. 12, №5. – С. 16–18.
2. Рациональне застосування нестероїдних протизапальних

- препаратів при лікуванні захворювань суглобів / [Зупанець І.А., Коваленко В.М., Дзяк Г.В. та ін.] – Харків: Національна фарм. акад. України, 2002. – 24 с.
3. Викторов А.П. Безопасность современных нестероидных противовоспалительных препаратов: между Сциллой и Харибдой / А.П. Викторов // Український ревматологічний

- журнал. – 2002. – №4. – С. 12–19
4. Rainsford K.D. Anti-inflammatory drugs in the 21st century / Rainsford K.D. // *Subcell Biochem.* – 2007. – Vol. 42. – P. 3–27.
 5. Експериментальне обґрунтування можливості підвищення ефективності та безпечності індометацину / Мамчур В.І., Подплетня О.А., Мазур І.А. та ін. // *Клиническая фармация.* – 2008. – Т. 12, №2. – С. 61–65.
 6. Подплетняя Е.А. Особенности эмоционально-поведенческого статуса животных с моделируемым артрозом при лечении препаратом «Индотрил» / Е.А. Подплетняя, Л.И. Кучеренко, В.И. Мамчур // *Запорожский медицинский журнал.* – 2008. – №3. – С. 82–87; №4. – С. 3–17.
 7. Подплетняя Е.А. Экспериментальное обоснование возможности снижения нефро- и гепатотоксичности индометацина с помощью тиотриазолина / Подплетняя Е.А. // *Вісник Вінницького національного медичного університету.* – 2007. – №11 (21). – С. 520–523.
 8. Противовоспалительный и хондропротекторный эффекты нового комплексного препарата индометацина и тиотриазолина / Мамчур В.І., Мазур І.А., Волошин М.А. и др. // *Мат. межд. науч.-практ. конф.* – Коломна, 20 апреля 2007. – Коломна, 2007. – С. 97–100.
 9. Доклинические исследования лекарственных средств: метод. реком. / Под ред. А.В. Стефанова. – К.: Авиценна, 2002. – 568 с.
 10. Mono-iodoacetate-induced experimental osteoarthritis: a dose-response study of loss of mobility, morphology, and biochemistry / C. Guingamp, P. Gegout-Pottie, L. Philippe [et al.] // *Arthritis Rheum.* – 1997. – Vol. 40, №9. – С. 1670–1679.
 11. Стефанов А.В. Биоскрининг. Лекарственные средства / Стефанов А.В. – К.: Авиценна, 1998. – С. 56–58.
 12. Suppression by flavonoids of cyclooxygenase-2 promoter-dependent transcriptional activity in colon cancer cells: structure-activity relationship / M. Mutoh, M. Takahashi, K. Fukuda [et al.] // *Jpn. J. Cancer Res.* – 2000. – Vol. 91, №7. – P. 686–691.
 13. Jiang Q. Gamma-tocopherol, but not alpha-tocopherol, decreases proinflammatory eicosanoids and inflammation damage in rats / Q. Jiang, B.N. Ames // *FASEB J.* – 2003. – Vol. 17, №8. – P. 816–822.
 14. The effects of indomethacin, NDGA, allopurinol and superoxide dismutase on prostaglandin E2 and leukotriene C4 levels after mesenteric ischemia-reperfusion injury / M. Sare, S. Bozkurt, E. Onuk [et al.] // *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids.* – 1996. – Vol. 55, №6. – P. 379–383.
 15. Decreased superoxide dismutase expression and increased concentrations of lipid peroxide and prostaglandin F(2alpha) in the decidua of failed pregnancy / N. Sugino, M. Nakata, S. Kashida [et al.] // *Mol. Hum. Reprod.* – 2000. – №6. – P. 642–647.
 16. Cracowski J.L. Isoprostanes as as a biomarkers of lipid peroxidation in humans physiology, pharmacology and clinical implications / J.L. Cracowski, T. Durand, G. Bessard // *Trends in Pharmacol. Scie.* – 2002. – Vol. 23, №8. – P. 360–366.

Сведения об авторах:

Подплетняя Е.А., д. фарм. н., зав. каф. общей и клинической фармации ДДМА.

Мазур И.А., д. фарм. н., профессор. зав. каф. фармацевтической химии ЗГМУ.

Мамчур В.И., д. мед. н., профессор, зав. каф. фармакологии, клинической фармакологии и фармакоэкономики ДДМА.

Слесарчук В.Ю., к. биол. н., преподаватель каф. общей и клинической фармации ДДМА.

Портная Е.А., к. фарм. н., доцент каф. фармацевтической химии ЗГМУ.

Сведения об авторах:

Мазур Иван Антонович. 69035, пр-т Маяковского, 26, каф. фармацевтической химии ЗГМУ.

Тел.: (061) 224 69 25.